

Ursula Pellizzari

DIE AUSSCHIEDUNG GONADOTROPER
HYPOPHYSENHORMONE BEIM HYPOGONADISMUS
DES MÄNNLICHEN ZUCKERKRANKEN

Frankfurt am Main 1962

Aus der I. Medizinischen Universitätsklinik zu Frankfurt/Main
Direktor: Prof. Dr. med. F. Hoff

Die Ausscheidung gonadotroper
Hypophysenhormone beim Hypogonadismus
des männlichen Zuckerkranken

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin der
Hohen Medizinischen Fakultät
der Johann - Wolfgang - Goethe - Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Ursula Pellizzari
aus Frankfurt am Main

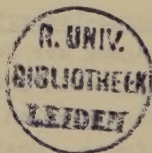
1962

Prüfung: 6. September 1962

Dekan: Prof. Dr. K. Herzberg

Referent: Priv. Doz. Dr. K. Schöffling

Correferent: Prof. Dr. J. Frey



Herrn Privatdozenten Dr. med. K. Sch ö f f l i n g
möchte ich für die Überlassung des Themas, sowie für
die Anleitung bei der Durchführung und Zusammenstellung
der Arbeit danken.

Herrn Prof. Dr. med. E. F. P f e i f f e r danke ich
für wertvolle Anregungen und Ratschläge.

G l i e d e r u n g

<u>I. Einleitung</u>	Seite 1
<u>II. Fragestellung</u>	3
<u>III. Die gonadotropen Hormone und ihre Rolle im Funktionskreis der Gonaden</u>	4
A. Hypophysäre Gonadotropine	5
B. Gonadotropine extrahypophysären Ursprungs	11
<u>IV. Der Nachweis hypophysärer Gonadotropine im Urin</u>	12
A. Die Anreicherung der Harngonadotropine	12
B. Die Bestimmung der Gonadotropine im biologischen Versuch	16
<u>V. Eigene Untersuchungen</u>	19
A. Untersuchungsgang	19
B. Methodik	19
1. Anreicherung nach Gorbman	19
2. Anreicherung nach Taubert und Weller	20
3. Bestimmung der Gonadotropine im Mäuse-Uterus-Test	21
C. Ergebnisse	24
1. Stoffwechselgesunde	24
2. Diabetiker ohne Hypogonadismus	24
3. Diabetiker mit Hypogonadismus	24

	Seite
D. Diskussion	27
E. Zusammenfassung	31
<u>VI. Literaturverzeichnis</u>	35
<u>VII. Lebenslauf</u>	40

I. Einleitung

=====

Auch heute, 40 Jahre nach der Einführung des Insulins in die Therapie des Diabetes mellitus erkranken immer noch zucker- kranke Männer in großer Zahl an Sexualstörungen. Diese Komplikation bedroht im Gegensatz zur Angiopathia diabetica nicht das Leben dieser Kranken, stellt aber eine große Be- einträchtigung dar und führt nicht selten im weiteren Ver- lauf zu schweren psychischen Veränderungen. Untersuchungen von Kuhlmei (1939), Bergqvist (1954), Rubin und Babbott (1958) sowie Schöffling (1959) haben gezeigt, daß etwa die Hälfte der vor dem 60. Lebensjahr an dem Stoffwechselleiden

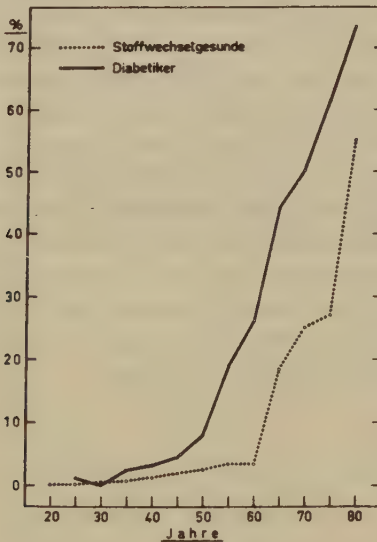


Abb. 1: Kumulative Verbreitung der Erektionsimpotenz bei Diabetikern und Stoffwechselgesunden (aus Schöffling, K.: Störungen der Keimdrüsen- funktion bei männlichen Zuckerkranken, Habilita- tionsschrift, Frankfurt/M., 1959; Stuttgart, F. Enke, 1960)

erkrankten Männer u. a. an einer mehr oder minder starken Impotenz leiden. Beim Vergleich der Ergebnisse Schöfflings (1959) bei 314 zuckerkranken Männern mit den Resultaten Kinseys (1948) zeigt sich, daß die Impotenz unter Diabetikern in den einzelnen Altersklassen 2 - 5 mal häufiger vorkommt als unter Stoffwechselgesunden (Abb. 1).

Die mittlere Coitushäufigkeit der Diabetiker in der Untersuchungsreihe Schöfflings unterschied sich eindeutig von der Stoffwechselgesunder. Die weiteren anamnestischen Erhebungen dieser Untersuchung ergaben, daß die Sexualstörung des Zuckerkranken zu jedem Zeitpunkt während des Stoffwechselleidens auftreten kann und nicht den charakteristischen Spätfolgekrankheiten zugeordnet werden darf, mit denen sie auch in keiner sicheren Korrelation steht. Auch wurde aus diesen Untersuchungen klar, daß die früher häufig geäußerte Ansicht, daß das Auftreten der Sexualstörungen von der Güte der Dauerstoffwechsellage abhängt (Falta (1944), Joslin (1947), Wiechmann (1953), Bergqvist (1954) u.a.), nicht richtig ist. Zwischen den Zuckerkranken mit Sexualstörungen und den Diabetikern ohne Einschränkung der sexuellen Leistungsfähigkeit fanden sich bei der Gegenüberstellung der mittleren Harn- und Blutzuckerwerte aus mehreren Jahren keine sicheren Unterschiede. Zahlreiche Diabetiker mit schwerer Keimdrüseninsuffizienz hatten immer eine gut eingeregulierte Stoffwechsellage.

II. Fragestellung

Die Resultate der anamnestischen Erhebungen Schöfflings und die Erkenntnis, daß die Sexualstörung eine so häufige Komplikation der Zuckerkrankheit ist, veranlaßten uns nun zu eingehenden klinischen Untersuchungen. Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es dabei, im Rahmen dieser endokrinologischen Funktionsdiagnostik ein Teilproblem zu bearbeiten und die Veränderungen der Ausscheidung gonadotroper Hormone bei Diabetikern mit Keimdrüsenfunktionsstörungen zu bestimmen und mit den Ergebnissen bei Stoffwechselgesunden und Zuckerkranken ohne Sexualstörung zu vergleichen.

Aus den Untersuchungen ergibt sich - dies sei vorweggenommen - , daß die Ausscheidung der Gonadotropine bei der überwiegenden Mehrzahl der Kranken vermindert ist, und daß somit die Sexualstörung des zuckerkranken Mannes auf ein Versagen der gonadotropen Partialfunktion des Hypophysenvorderlappens zurückzuführen ist. Diese Resultate wurden durch die Ergebnisse der histologischen Hodenuntersuchung bei diesen Kranken bestätigt.

III. Die gonadotropen Hormone und ihre Rolle im Funktions- =====

kreis der Gonaden =====

Während des Lebens ist der Organismus ständig dem Wechselspiel bestimmter Hormone unterworfen, die steuernd und gesteuert die Umwandlungen des Körpers von der Embryonalzeit an bis zur Phase der Rückbildung bewirken. Zu diesen Wirkstoffen zählen auch die Geschlechtshormone, die sich in die gonadotropen Hormone und in die eigentlichen Keimdrüsenhormone gliedern.

Man unterscheidet bei den gonadotropen Hormonen hypophysäre Gonadotropine und gonadotrope Hormone extrahypophysären Ursprungs. Zu den Wirkstoffen aus dem Hypophysenvorderlappen gehören:

1. das follikelstimulierende Hormon (FSH = follicle stimulating hormone)
(Synonyme Bezeichnungen: Prolan A, Thylakentrin),
2. das interstitielle Zellen-stimulierende Hormon (ICSH = interstitial cell-stimulating hormone)
oder Luteinisierungshormon: (LH = luteinizing hormone)
(Synonyme Bezeichnungen: Prolan B, Metakentrin) und
3. das luteotrope Hormon (LTH = luteotropic hormone)
oder luteo-mammotropes Hormon (LMTH)
(Synonyme Bezeichnungen: Prolactin, Mammotropin, Luteotropin, lactogenes Hormon).

In der Gruppe der Gonadotropine extrahypophysären Ursprungs werden zusammengefaßt:

1. das menschliche Choriongonadotropin (HCG = human chorionic gonadotropin)
2. das Gonadotropin aus dem Serum trächtiger Stuten (PMS = pregnant mare serum gonadotropin)

3. Gonadotropin aus Chorionepitheliomen oder Tumoren mit chorionähnlichen Geweben.

Die eigentlichen Keimdrüsenhormone werden neben den Ei- bzw. Samenzellen in den Gonaden gebildet. Sie sind für die Entwicklung der Geschlechtsorgane sowie die Ausbildung der sekundären Geschlechtsmerkmale von entscheidender Bedeutung. In fein abgestimmten Wechselbeziehungen zu den Keimdrüsenhormonen stehen die Gonadotropine, die nur über die Gonaden wirken und keinen unmittelbaren Einfluß auf die sekundären Geschlechtsmerkmale haben.

A. Hypophysäre Gonadotropine

Die Hypophyse ist die übergeordnete Befehlsstelle im endokrinen System, die neben anderen Funktionen durch ihre glandotropen Hormone Schilddrüse, Nebennieren und Keimdrüsen steuert. Die Abgabe der glandotropen Hormone aus dem Hypophysenvorderlappen wird durch die jeweiligen Hormone der Erfolgsdrüsen über Zwischenhirnzentren reguliert, die möglicherweise als Chemorezeptoren auf den Hormongehalt des Blutes ansprechen. Das zentrale Steuerorgan, die Hypophyse und die periphere Hormondrüse stehen somit in enger funktioneller Beziehung.

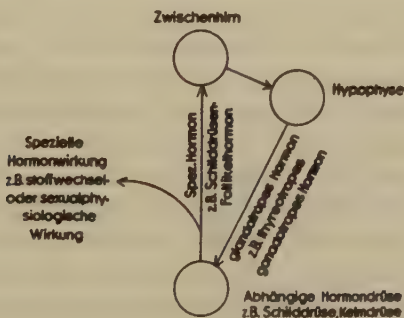


Abb. 2: Funktionskreis der Hormone (nach Hoff, F.: Klinische Physiologie und Pathologie, 5. Aufl., Stuttgart, Gg. Thieme, 1957)

In Selbststeuerung kontrollieren in diesem Funktionskreis (Hoff, 1957) die einzelnen Stationen den Hormongehalt des Blutes und reagieren hemmend oder fördernd auf die jeweiligen Impulse. Stimuliert die Hypophyse durch ihre gonadotropen Hormone die Keimdrüsen zur Produktion und Sekretion ihrer Wirkstoffe, wird durch den erhöhten Gehalt des Blutes an Keimdrüseninkreten die entsprechende Gonadotropinsekretion des Hypophysenvorderlappens über die Zwischenhirnzentren oder direkt gehemmt und damit der Gonadotropin- und Keimdrüsenhormonspiegel im Blut in einem Gleichgewicht gehalten. Liegt ein verminderter Keimdrüsenhormongehalt im Blut vor, kommt es wiederum über die Zwischenhirnzentren oder direkt zu einer gesteigerten hypophysären Gonadotropinausscheidung und damit zur Keimdrüsenstimulation.

Während wir einerseits heute sicher wissen, daß die Gonadotropine im Hypophysenvorderlappen gebildet werden, ist es andererseits bis jetzt noch nicht restlos klar, in welchem Zellsystem des Hypophysenvorderlappens die Produktion erfolgt. In der älteren histologischen Forschung werden die Zellen des Hypophysenvorderlappens in drei Typen eingeteilt, die sich aufgrund physikalisch-chemischer Eigenschaften gegenüber basischen und sauren Farbstoffen, insbesondere gegenüber Hämatoxylin-Eosin unterschiedlich verhalten. Die drei Zelltypen sind:

- a. Chromophobe Zellen, die weder zu sauren noch zu basischen Farbstoffen Affinität aufweisen; demnach erscheinen sie kaum oder überhaupt nicht gefärbt.
- b. Chromophile Zellen:
 - α) Basophile Zellen, die dicht mit Granula beladen sind, deren färberisches Verhalten weitgehend durch die Granula bestimmt wird, und die das basische Hämatoxylin aufnehmen.
 - β) Eosinophile Zellen, die ebenfalls Granula enthalten, die aber zum Unterschied von den Basophilen mit dem sauren Eosin reagieren.

Die Anwendung neuerer Differenzierungsmethoden gaben Anlass zu weiterer Unterteilung dieser drei Typen. Romeis (1940) bezeichnete die Acidophilen oder Eosinophilen als α -Zellen, die Basophilen als β -Zellen und gruppierte die Chromophoben in γ -, δ - und ϵ -Zellen. Experimentelle und klinische Befunde sprechen dafür, daß die granulierten Zellen die eigentlichen Hormonbildner sind. Hierfür sprechen u.a. die Untersuchungen von McShan und Meyer (1952), denen es gelang, aus isolierten Granula ein vorwiegend ICSH-haltiges Gonadotropin zu gewinnen. Die Chromophoben wurden ursprünglich als Reservezellen angesehen. Diese Bezeichnung trifft jedoch nur für eine der von Romeis (1940) unterteilten Zellgruppen zu, denn unter den Chromophoben gibt es auch hochaktive Zellen. Nach Ansicht von Herlant (1943) decken die Chromophoben den ständigen Dauerbedarf, während die granulierten Zellen erst unter der Belastung aktiviert werden.

Die morphologischen Reaktionen der Hypophysenvorderlappenzellen während der verschiedenen biologischen Situationen und im Verlaufe der einzelnen Entwicklungsstadien des Individuums geben Anlass zu der Vermutung, daß die Basophilen das FSH bilden und sezernieren, während die Eosinophilen sehr wahrscheinlich das ICSH produzieren. Die Bildung des LTH wird wahrscheinlich einer Untergruppe der Eosinophilen zukommen. Interessant ist auch die Meinung von Severinghaus (1935), der glaubte, daß die Zellen des Hypophysenvorderlappens einem Zyklus unterworfen sind. Nach dieser Vorstellung erarbeiten die Chromophoben ihre inkretorischen Produkte und speichern sie in ihrem Zytoplasma. Sie werden dadurch größer, und das Zytoplasma erscheint granuliert; dadurch werden aus den chromophoben die basophilen bzw. acidophilen Zellen. Diese schütten dann ihre Wirkstoffe aus, das Zytoplasma verliert seine Granula, und aus den chromophilen Zellen sind wieder chromophobe geworden, bis der Zyklus von neuem beginnt. Bei Zufuhr von Oestrogenen verringert sich die Zahl der basophilen Zellen, während sich die der chromophoben und die acidophilen vermehrt (Everett und Baker, 1945). Li (1949), Benz (1941) u.a.

haben nachgewiesen, daß die hypophysären Gonadotropine zur Klasse der Proteohormone gehören. Man rechnet sie zu den Glykoproteiden, denn neben dem Eiweißanteil findet sich ein bestimmter Prozentsatz von Hexosen und Aminohexosen, der wahrscheinlich für die biologische Wirkung von Bedeutung ist. Die Ausnahme bildet das luteotrope Hormon (LTH), das ein einfaches Protein ohne Hexose- bzw. Aminohexoseanteil ist. Als Eiweißkörper sind alle Hypophysenhormone durch peptische oder tryptische Verdauung inaktivierbar. Aus diesem Grunde sind von ihnen auch bei oraler Gabe keine Wirkungen zu erwarten; sie müssen immer parenteral verabreicht werden.

Weitgehend unabhängig von anderen Faktoren stehen Hypophyse, Gonaden und sekundäre Geschlechtsorgane in enger Beziehung in Form eines inneren Regulationssystems. Aschheim und Zondek (1928) vertraten die Ansicht, daß das Follikelreifungshormon (FSH) das Wachstum und die Hormonproduktion des Follikels induziert, daß das Luteinisierungshormon (LH) den Follikel zum Gelbkörper umwandelt und ihn zur Produktion von Progesteron anregt. Den Follikelsprung selbst führten sie auf das gemeinsame Wirken dieser beiden Hormone, die sie damals Prolan A und B nannten, zurück. Neuere Forschungsergebnisse weisen weitaus kompliziertere Zusammenhänge im Synergismus der drei hypophysären Gonadotropine - FSH, ICSH und LTH - auf.

Im weiblichen Organismus steht die Follikelreifung unter dem Einfluß des follikelstimulierenden Hormons. Unter dem alleinigen steuernden Einfluß des FSH kommt es zur Bildung von Follikelzysten, ohne daß jedoch Follikelsprung erfolgt (Hertz und Hisaw, 1934). Diese Beobachtung wurde von Li, Simpson und Evans (1949) in Versuchen mit reinen Hormonfraktionen sowie von Simpson und Mitarbeiter (1950/51) mit dem homogenen, biologisch reinen Hormonprotein bestätigt.

Beim männlichen Geschlecht bewirkt das FSH sowohl das Wachstum der Tubuli als auch die Spermatogenese bis zu den reifen Spermatozoen.

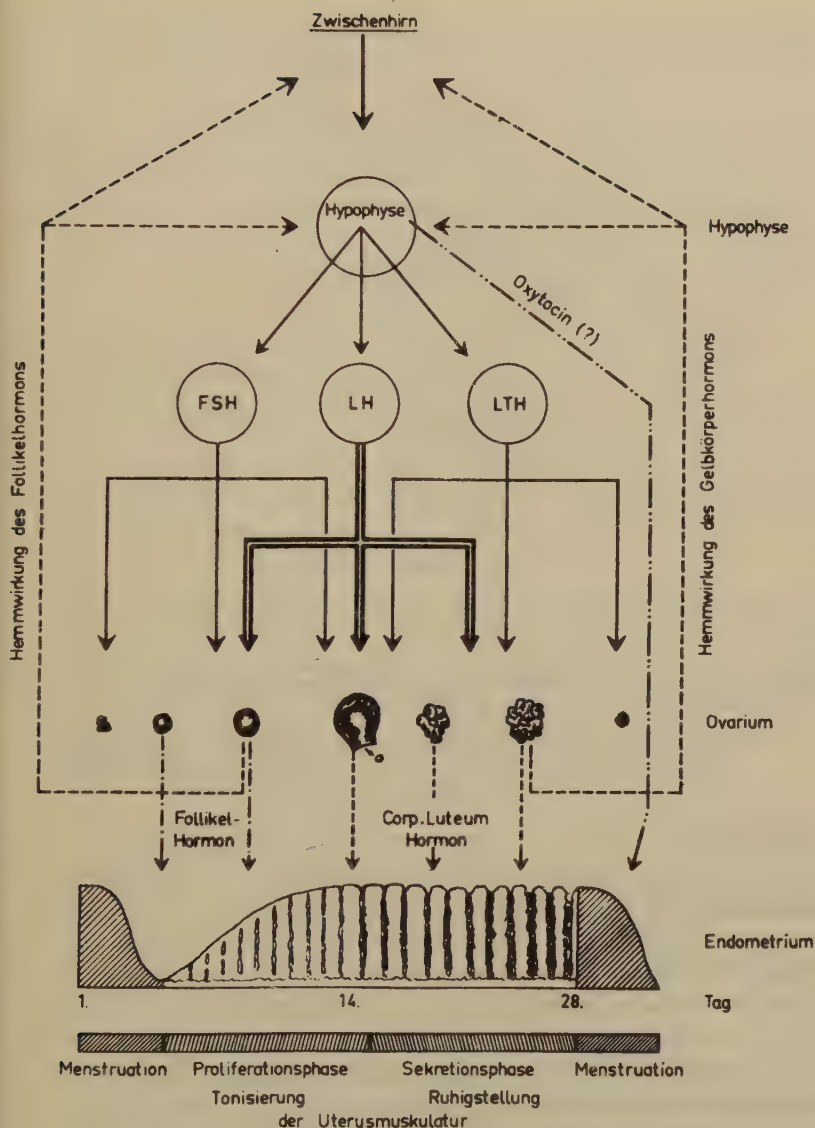


Abb. 3: Schema der hormonalen Steuerung der Keimdrüsenfunktion bei der Frau
(nach Hoff, F.: Klinische Physiologie und Pathologie, 5. Aufl., Stuttgart, Gg. Thieme, 1957)

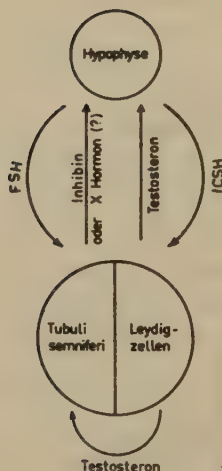


Abb. 4: Schema der hormonellen Steuerung der Keimdrüsenfunktion beim Manne
(nach Hoff, F.: Klinische Physiologie und Pathologie, 5. Aufl., Stuttgart, Gg. Thieme, 1957)

Bei beiden Geschlechtern bringt das interstitielle Zellenstimulierende Hormon das Zwischenzellgewebe der Gonaden zur Entwicklung. Unter ICSH-Einwirkung in Zusammenarbeit mit FSH erfolgt im Ovar der Follikelsprung und nach dem Follikelsprung die Bildung des Corpus luteum aus den Granulosaresten. Die Folge ist eine weitere Gewichtszunahme des Ovars über den vom FSH induzierten Gewichtsanstieg hinaus. In Synergie mit FSH veranlaßt ICSH die Oestrogenbildung, die bis zu ihrem physiologischen Maximum gesteigert wird und mit dem Einsetzen der Progesteronbildung ihren Höhepunkt erreicht hat. Diese

Progesteronbildung jedoch wird nur durch die zusätzliche Einwirkung des LTH ausgelöst.

Das Interstitialgewebe der männlichen Gonaden untersteht ebenfalls der ICSB-Einwirkung; in ihm erfolgt unter dem steuernden Einfluß des ICSH die Testosteronsynthese. Bei beiden Geschlechtern kommen im Erwachsenenalter FSH und ICSH in einem Verhältnis von 2 (bzw. 3) : 1 zur Ausscheidung. Beim Kastraten und in der Menopause ist diese Relation weiterhin zugunsten des FSH auf 5 - 6 : 1 verschoben, das nach Erlöschen der Keimdrüsenfunktion 80 - 90% der Harngonadotropine umfaßt (Evans und Simpson (1950); Evans und Gorbman (1942)).

Das LTH ist ein stimulierendes Agens für die sekretorische Tätigkeit der Corpora lutea. Dieser luteotrope Faktor regt sowohl die Produktion als auch die Sekretion des Progesterons im Gelbkörper an. Weiterhin spielt es in der Laktation neben anderen ergänzenden und synergistischen Faktoren eine Rolle. Eine Laktation ohne Einwirkung von LTH gibt es nicht.

Bisher war eine genaue Analyse und Abgrenzung der Aufgabenbereiche der einzelnen gonadotropen Hormonfaktoren noch nicht möglich. Die Forschungsergebnisse weichen zum Teil sehr voneinander ab. Aber einige aufschlußreiche Befunde lassen auf wesentliche Grundzüge des Mechanismus der Gonadotropinwirkung schließen. Drei Wirkungsphasen werden unterschieden:

1. Die Bereitstellung von Energie,
2. die Heranschaffung oder Synthese von Baumaterial für die Hormonbildung und
3. die Umwandlung der bereitgestellten "potentiellen" Energie in eine "kinetische" Energie, d.h. die eigentliche Synthese der Hormone und ihre Sekretion (Werth, 1955/56).

B. Gonadotropine extrahypophysären Ursprungs

Das menschliche Choriongonadotropin ist ebenfalls ein Glykoproteid. Es wird physiologischerweise nur während der Schwangerschaft gebildet. Die größte Menge wird zwischen dem

60. und 80. Tag der Gravidität ausgeschieden. Ausgangsmaterial für die technische Gewinnung von HCG sind entweder Placentagewebe, Schwangerenharn oder auch Blut von Graviden. Die Bildungsstätte dieses Wirkstoffes ist das Choriongewebe, die Langhanszellen in den Chorionzotten der Placenta. Die physiologische Bedeutung dieses Hormons ist noch nicht restlos geklärt. Es hat fast ausschließlich ICSH-Wirkung. Biologisch denkbar ist es, daß das HCG während der Schwangerschaft die Funktion des ICSH übernimmt. Das HCG ist ebenso wie alle anderen gonadotropen Wirkstoffe geschlechtsunspezifisch. Seine ICSH-Wirksamkeit ist auch beim männlichen Individuum an dem Effekt auf das Interstitium und damit auf die Testosteronsynthese und -Sekretion erkennbar. Ein weiteres Schwangerschafts-Gonadotropin ist das Gonadotropin aus dem Serum trächtiger Stuten. Seine Produktionsstätte soll in den Zellen des Chorions oder im Endometrium liegen. Das Stuten-serum-Gonadotropin wirkt in der gleichen Weise wie das FSH.

IV. Der Nachweis hypophysärer Gonadotropine im Urin =====

A. Die Anreicherung der Harngonadotropine

Als Ausgangsmaterial zur Gewinnung größerer Mengen gonadotroper Wirkstoffe für die Therapie dient das Serum trächtiger Stuten, die Placenta des Menschen und der Harn schwangerer Frauen. Die Extraktion aus Hypophysen ist möglich, aber bisher zu kostspielig.

Zum Nachweis der Gonadotropine im Harn Kranker ist eine Anreicherung der Wirkstoffe unbedingt notwendig, da die Testtiere, an denen der Hormongehalt im biologischen Versuch bestimmt wird, nur eine begrenzte Urinmenge vertragen. Die Anreicherung kann auf verschiedene Weise erfolgen. Die bekanntesten Verfahren sind:

a. Fällungsmethoden

- α) Fällung durch Alkohol oder Aceton
- β) Aussalzung durch Natrium- oder Ammonium-sulfat

b. Adsorptionsmethoden

- α) Adsorption an Benzoesäure, Aluminiumhydroxyd, Chinin, Tannin, Kohle, Permutit, Kieselgur, Kaolin,
- β) Adsorption an Niederschläge mit Phosphorwolframsäure, Uranylacetat, Bleiacetat, Bariumsulfat, Phosphormolybdänsäure,
- γ) Adsorption an Filter.

Die erste Fällungsreaktion mit Alkohol ist von Zondek (1928), der dabei gleichzeitig Ballast- und Giftstoffe sowie Oestrogene durch Waschen mit Aether abtrennte. Scott (1940) reichte die Gonadotropine des Schwangerenurins durch Acetonfällung an. Diese Methode hat den Vorteil, daß bei der Aufarbeitung bereits die oestrogenen Substanzen abgetrennt werden. Alle Fällungsmethoden haben jedoch den Nachteil, daß die Gonadotropine von zahlreichen anderen Substanzen im menschlichen Urin nicht ausreichend abgetrennt werden. So werden beispielsweise auch die in geringen Mengen ausgeschiedenen Proteine ausgefällt. Eiweiße können jedoch bei der Austestung der gonadotropen Hormone am Versuchstier eine Vermehrung oder Änderung der spezifischen Stimulation der Gonaden erzielen Maddock und Heller (1950), Vincke (1950). Auch werden im Urin des Menschen toxische Substanzen ausgeschieden, die sich bei den meisten Eiweißfällungen ebenfalls anreichern.

Die Adsorptionschromatographie wurde zur Darstellung von Gonadotropinen zum ersten Male von Katzman und Doisy (1932) verwandt. Sie benutzten zunächst Benzoesäure und Wolframsäure als Adsorptionsmittel und gingen später auf Permutit über. Malburg und Goodman (1954) adsorbierten an Aluminiumhydroxyd. Die Benzoesäure- und Wolframsäure-Methoden nach Katzman und Doisy sowie die Tanninfällung nach Lewin und Tyndale (1937) wurden von Evans und

Simpson (1950) als klinisch gut verwendbar angesehen. Mittels dieser Verfahren sind geringste Gonadotropinmengen nachweisbar. Zur Anreicherung und gleichzeitiger Trennung der Gonadotropine aus Schwangerenarn von dem Follikelhormon wird ein Verfahren der Adsorption an Kieselgur von Zondek (1928) angegeben. Weiterhin wurde die Adsorptionsfähigkeit von Gonadotropinen an Kaolin mit anschließender Ausfällung des eluierten Hormons durch Alkohol für den quantitativen Nachweis der im Harn ausgeschiedenen gonadotropen Hormone von Bradbury, Brown und Brown (1949) beschrieben, die ihre Untersuchungen auf die hypophysären gonadotropen Wirkstoffe ausdehnten. Eine ähnliche Methode mit gleichzeitiger Entfernung der Oestrogene wurde von Loraine (1950) angegeben.

Bei den Adsorptionsverfahren an Kaolin ist ein gewisser Nachteil darin zu sehen, daß auch andere im Urin enthaltene Hormone an Kaolin adsorbiert werden (Loraine, 1950), die nach der Elution der gonadotropen Hormone wieder von diesen getrennt werden müssen. Außerdem muß mit Verlusten an Gonadotropin gerechnet werden, da bei der Elution keine vollständige Lösung des gonadotropen Hormons von dem Kaolinadsorbat erreicht wird.

Nachdem es gelungen war, durch die adsorptionschromatographischen Methoden mittels verschiedener Adsorbentien choriogenes Gonadotropin anzureichern, entwickelten Taubert und Weller (1956) einen Arbeitsgang, der es möglich macht, hypophysäre Gonadotropine mit dieser Technik aus dem Harn zu gewinnen. Ihr Versuch stützte sich auf die Arbeit von Katzman und Mitarbeiter (1948), die das HCG an Permutit adsorbierten.

Die Anwendung der Dialyse zur Hormongewinnung ermöglicht die Erfassung geringster Gonadotropinmengen aus größeren Urinvolumina. Durch die Membran werden die durchfließenden kleinen Moleküle von den Gonadotropinen getrennt. Dickens (1930) gebrauchte erstmalig die Dialyse zur Reinigung von Choriogonadotropin, das zuvor durch Ammoniumsulfat oder Tannin ausge-

fällt worden war. Heller und Chandler (1942) fällten mit Alkohol und dialysierten anschließend. Ein ähnliches Verfahren ist die 1943 von Klinefelter, Albright und Griswold angegebene Methode, bei der das Dialysierverfahren mit der Alkohol-Aetherfällung nach Zondek (1928) kombiniert wird. Es hat bis heute die größte Verbreitung gefunden.

Die Ultrafiltration kam 1951 erstmalig durch Wiesner und Marschall zur Anwendung. 1937 entwickelte dann Bomskov eine Versuchstechnik mit Seitz-Filtern, und 1945 beschrieb Gorbman ein Verfahren, das auf der Ultrafiltration des Harns mit selbstgefertigten Kollodiummembranen mit einem Hochdruckapparat beruht. Von Massenbach und von Eickstedt (1954) haben dann diese Methode der Ultrafiltration durch Verwendung eines speziellen Hochdruckapparates und genau definierter Ultracellafilter verbessert.

Viele der bisher besprochenen Methoden zum Nachweis der Gonadotropine im Urin sind kompliziert und zeitraubend, manche sind für die endokrine Funktionsdiagnostik unzureichend. In der Klinik haben sich insbesondere das Alkohol-Präcipitations-Dialysierverfahren nach Klinefelter und Mitarbeiter (1943), die Ultrafiltrationsmethode nach Gorbman und die adsorptionschromatographische Gonadotropingewinnung nach Taubert und Weller bewährt.

Da wir unsere Untersuchungen mit den Verfahren von Gorbman sowie Taubert und Weller ausführten, deren technische Einzelheiten im Abschnitt Methodik ausführlich dargestellt werden, sollen im folgenden zwei Arbeiten hervorgehoben werden, die diese beiden Methoden mit der Gonadotropinbestimmung von Klinefelter und Mitarbeiter vergleichen. Wie Taubert und Weller feststellen, ist Permutit als Adsorbens für die Hypophysengonadotropingewinnung ebenso geeignet wie zur Adsorption von choriogenem Hormon. In Vergleichsuntersuchungen mit der Alkohol-Präcipitations-Dialysiermethode nach Klinefelter und Mitarbeiter stellten sie weiter fest, daß durch die Adsorption an Permutit eine um 15 - 25 % größere Menge hypophysärer Gonadotropine erfaßt wird.

Die quantitative Genauigkeit des Gorbman'schen Verfahrens wurde von Jungck, Maddock und Heller (1947) untersucht. Sie verglichen die Methode der Alkoholfällung mit anschließender Dialyse und bestätigten die Vorzüge des Ultrafiltrationsverfahrens gegenüber der Alkohol-Präcipitations-Dialysiermethode. Obwohl bei beiden Methoden die quantitative Genauigkeit des Hormonnachweises etwa gleich sein soll, ist das Verfahren der Ultrafiltration einfacher, billiger und erstreckt sich über einen kürzeren Zeitraum. Die Alkohol-Präcipitations-Dialysiermethode erfordert mehr Material und mehr Arbeit als das Ultrafiltrationsverfahren.

Aufgrund dieser Umstände hatten wir uns ursprünglich für das Ultrafiltrationsverfahren nach Gorbman (1945) in der Modifikation von von Massenbach und von Eickstedt (1954) entschlossen, später aber die Methodik der chromatographischen Gonadotropinbestimmung nach Taubert und Weller (1956) übernommen, die noch einfacher ist und eine größere Zahl von Bestimmungen zur gleichen Zeit erlaubt.

B. Die Bestimmung der Gonadotropine im biologischen Versuch

Alle gonadotropen Hormone haben als gemeinsamen Wirkungsort steroidproduzierendes Drüsengewebe (Ovar und Hoden). Sie bewirken charakteristische morphologische Veränderungen in den verschiedenen Zelltypen dieser Organe und führen zu einer Gewichtszunahme. Diesen Vorgang der direkten Beeinflussung des Erfolgsorgans wird als "primärer" oder "direkter" Effekt, der Nachweis der Gonadotropine, der auf diesen Wirkungen beruht, als "direkte" Methode bezeichnet. Demgegenüber steht die Gonadotropineinwirkung durch Stimulierung der Keimdrüsenhormonproduktion und -sekretion, die "indirekt" oder "sekundär" die Vergrößerung der Erfolgorgane (Uterus, Prostata und Samenblase) hervorruft. Sowohl die "direkten" als auch die "indirekten" Methoden können für die Bestimmung der Gonadotropine angewandt werden.

Bei den "direkten" Methoden wird die Reaktion an den Keimdrüsen gemessen. Zur Gonadotropinaustestung am männlichen Tier sind die Methode der Reaktionsmessung am Hoden der Taube sowie der Frosch- oder Krötentest (Auslösung der Spermatorrhoe) weit verbreitet. Bei weiblichen Tieren werden zur Testung die Gewichtsveränderungen des Ovars bei Nagern, die Gelbkörperbildung im Ovar der Nager in verschiedenen Modifikationen sowie die Ovulationsreaktion des Kaninchens verwandt. Der Ovargewichtsanstieg des Nagerweibchens ist die gebräuchlichste "direkte" Methode zur Auswertung gonadotroper Hormone. Ob die Reaktion in erster Linie vom FSH oder vom ICSH hervorgerufen wird, ist nicht mit Sicherheit bekannt. Bei dem Gelbkörpertest muß eine histologische Untersuchung der Nagerovarien vorgenommen werden, da das Corpus luteum makroskopisch kaum erkannt werden kann.

Die "indirekten" Methoden beruhen auf der Messung sekundärer Wirkungen der Gonadotropine, wobei die Stärke der durch die Keimdrüsenhormone ausgelösten Effekte ein Maß für die zu bestimmenden gonadotropen Hormone ist. Zu diesen Auswertungsverfahren zählen beim männlichen Tier die Veränderungen am Kamm infantiler Hähne und an der Samenlase und Prostata der Nager, beim weiblichen Tier das Brunstreaktionsverfahren sowie der Test am infantilen Uterus, wobei Größen- und Gewichtszunahme des Uterus das Maß der Wirkung darstellen. Die Reaktion am Kamm infantiler Hähne ist zwar für die quantitative Bestimmung nicht brauchbar, aber für die Unterscheidung der verschiedenen gonadotropen Hormone wertvoll. Leicht durchführbar und zu beurteilen ist die qualitative Testmethode der Brunstreaktion, die unter den "indirekten" Methoden große Bedeutung gewonnen hat. Das bekannteste Verfahren ist der Allen-Doisy-Test (1923), der für eine quantitative Auswertung jedoch ungeeignet ist. Verschiedene andere Reaktionen an Warmwasserkroten, an Kaltblüter und an Fledermäusen im Winterschlaf werden nur selten angewandt.

Die Wahl der Methode richtet sich stets nach dem Zweck der Untersuchung. Bei den indirekten Methoden weisen die Ergeb-

nisse größere Schwankungen auf als die direkten Verfahren. Für den klinischen quantitativen Nachweis von Gonadotropinen ist die Messung der Ovargewichtszunahme zwar brauchbar, hat sich aber nicht eingeführt, weil das Nagerovar für das menschliche Gonadotropin relativ unempfindlich ist. Eine sichere Gewichtszunahme tritt erst auf, wenn viele Follikel gereift und eventuell luteinisiert sind. Dieser Effekt wird erst mit der 8-fachen Gonadotropinmenge erreicht, die für die Erzielung einer sicheren Uterusgewichtszunahme nötig ist.

Da somit die direkten Methoden für klinische Routineuntersuchungen unzureichend sind, wird für diesen Zweck der indirekte Nachweis der Gonadotropinwirkung auf den Uterus infantiler Mäuse und Ratten verwandt. Die injizierten Gonadotropine bewirken einen Anstieg der Ovarialhormon-Produktion und -Sekretion, und diese wiederum greifen an ihrem Erfolgsorgan an und führen zur messbaren Uterusgewichtszunahme.

Das Maximum der Uterusvergrößerung liegt bei 700 %, während die gleiche Hormondosis das Ovargewicht nur um 50 % erhöht. Die kleinste Gonadotropinmenge, die eine Uterusvergrößerung und -Gewichtszunahme hervorruft, beträgt $\frac{1}{8}$ der kleinsten Dosis, die eine Ovargewichtszunahme bewirkt (Heller, Lauson und Sevringhaus, 1938). Deshalb kann der Uterustest für die Bestimmung niedriger Normalwerte oder eindeutiger Verminderungen überhaupt nicht durch die direkte Ovar-Methode ersetzt werden (Alexandridis und Mitarbeiter, 1958). Bei Organgewichtsmessungen sind erhebliche Schwankungen (bis zu 100 %) unvermeidlich (Szendi, 1938). Aber auch die Reaktionsbreite der Versuchstiere liegt bei 300-400 % (Gustavson und D'Amour, 1941). Jedoch läßt sich der Nachteil dieser biologischen Methode durch Verwendung einer größeren Anzahl von Versuchstieren ausgleichen. Levin und Tyndale (1937) sowie Klinefelter und Mitarbeiter (1943) definierten eine Mäuse-Uterus-Einheit (MUE) als ein Minimum der Hormonmenge, die, nach Applikation einer Hormondosis über 3 - 4 Tage an 5 Mäuse, das Uterusgewicht im Durchschnitt um 100 % gegenüber gleichaltrigen Kontrollen ansteigen läßt.

V. Eigene Untersuchungen

A. Untersuchungsgang

Vor Ermittlung der Normalausscheidung gonadotroper Hormone von stoffwechselgesunden Männern wurden zunächst unsere beiden Anreicherungsverfahren durch Zusatz von Chorion- und Serumgonadotropin getestet. Dann wurden zur Ermittlung des mittleren Normalwertes in 6 Versuchen die Urine von je fünf gesunden Männern zwischen 20 und 40 Jahren gemischt, angereichert und im Mäuseversuch getestet. in 26 Untersuchungen wurde weiterhin die Gonadotropinausscheidung bei 12 Diabetikern ohne Einschränkung der sexuellen Leistungsfähigkeit erfasst. Die Anreicherung wurde hierbei 11 mal nach Taubert und Weller und 15 mal nach von Massenbach und von Eickstedt durchgeführt.

Bei 31 Diabetikern mit Störung der Keimdrüsenfunktion wurde dann im Hauptversuch die Ausscheidung hypophysärer Gonadotropine bestimmt. Insgesamt wurden 57 Untersuchungen bei diesen Kranken ausgeführt, 14 mal erfolgte die Anreicherung mit der Ultrafiltration und 43 mal durch Adsorption an Permutit.

Die Bestimmung der Gonadotropine wurde nur im Rahmen eines stationären Aufenthaltes im Zusammenhang mit den klinischen Untersuchungen, den Steroidanalysen und der evtl. Hodenbiopsie ausgeführt. Es kamen nur exakt gesammelte und im Kühlschrank verwahrte 24 - Stunden - Urine zur Aufarbeitung. Die Patienten erhielten keine Medikamente mit Ausnahme von Insulin oder Sulfonylharnstoffen. Die Harnsammlung erfolgte erst nach Stoffwechselkompensation.

B. Methodik

1. Anreicherung nach Gorbman

Zur Ultrafiltration dient ein Hochdruckapparat aus V2A-Stahl, der sich aus einem oberen Teil und einer Bodenplatte zusam-

mensetzt. Das Oberteil, eine Druckglocke mit 2 l Inhalt, ist mit einem Aufsatz zum Anschluß an die Druckleitung versehen, in welchem zugleich das Einstellventil, ein Manometer bis 40 Atm. und ein kleiner Einfüllstutzen zur Füllung des Gerätes eingebaut sind. Die Bodenplatte besteht aus einem festen Gestell mit einer Siebplatte. Sie ist zur sicheren Abdichtung des Gerätes mit dem oberen Teil durch einen Schraubenkranz verbunden. Um der Membran eine elastische Unterlage zu geben, wird auf die Siebplatte angefeuchtetes Filterpapier gelegt. Dadurch wird ein punktförmiges Anpressen an die kranzförmig angeordneten feinen Sieblöcher ausgeschaltet. Dieses angefeuchtete Filterpapier wird mit der Filtermembran bedeckt und das Gerät unter Verwendung eines Dichtringes durch Verschrauben geschlossen.

Der Urin wird vorgefiltert, abgemessen, alkalisch gemacht und durch den Einfüllstutzen in den Apparat gegossen. Als Druckquelle dient eine mit einem Reduzierventil versehene Stickstoff-Flasche, mit der das Gerät durch einen druckfesten Metallschlauch verbunden wird. Innerhalb weniger Minuten steigert man den Druck langsam bis auf 30 Atm. Der für diesen Hochdruckapparat vorgesehene Arbeitsdruck von 30 Atm. und die nutzbare Filterfläche von 100 cm^2 ergeben eine optimale Filterleistung. Nach Abschluß der Filtration wird der Druck abgelassen, die Membran in einem 15 cm^3 Zentrifugenglas mit Alkohol-Aether übergossen. Nach Zentrifugierung gießt man die Flüssigkeit ab und wäscht das hormonhaltige Präcipitat vier- bis fünfmal mit Alkohol-Aether. Nach Trocknung im Vacuumexsiccator kann das angereicherte Gonadotropin sogleich zur Austestung verdünnt und der Versuch noch am gleichen Tag begonnen werden.

2. Anreicherung nach Taubert und Weller

Ausgangsmaterial für die chromatographische Gonadotropinanreicherung ist auch die 24-Stunden-Harnmenge, die durch Essig auf einen p_H - Wert von 4,0 eingestellt wird. Jeweils $250 - 300 \text{ cm}^3$ Harn fließen aus Scheidetrichtern Chromatographieglasröhren (Länge 60 cm, Durchmesser 1,2 cm) zu, die als

Adsorbens Permutit enthalten. Durch das Senken des Flüssigkeitsspiegels wird selbsttätig ein kontinuierliches Nachfließen erreicht. Nach Passage des Harns werden die Permutitsäulen durch Anschluß an eine elektrische Saugpumpe getrocknet. Zur Elution werden für jede Säule 60 cm³ Elutionsmittel, das aus 35%igem unvergälltem Alkohol besteht und 10 % Ammonacetat enthält, verwandt, das durch die Glasröhren geschickt und in 250 cm³ fassende Zentrifugengläser wieder aufgefangen wird. Diese Gläser werden mit 96%igem Alkohol auf 250 cm³ aufgefüllt - da ja die Fällung der Gonadotropine aus dem Eluat nur durch eine höhere Alkoholkonzentration möglich ist - und für 6 Stunden in den Eisschrank gestellt. Die Trennung des Niederschlags von dem Alkohol geschieht durch Zentrifugieren (3 Min., 2500 - 3000 Umdrehungen), so daß das gewonnene Material fest dem Glasboden anhaftet und man den Alkohol ohne Verluste abgießen kann. Getrocknet werden die Zentrifugengläser im Vacuumexsiccator über Calciumchlorid. Anschließendes Waschen der Präcipitate mit Aether und nachfolgendes Dekantieren ist notwendig für die Entfernung der vorhandenen Oestrogene und Giftstoffe. Für etwa 1 Stunde bringt man die Gläser nochmals in den Exsiccator und stellt ein Glas konzentrierte Schwefelsäure dazu, um den restlichen Aether zu entfernen. Nun können die Präcipitate mit einem Glasstab zu feinem Pulver zerrieben und in der für den Test vorgesehenen Wassermenge gelöst werden.

3. Bestimmung der Gonadotropine im Mäuse-Uterus-Test

Unsere biologische Auswertung des Gonadotropingehaltes im 24 - Stunden - Harn erfolgte durch Messung der Gewichtszunahme des Uterus infantiler Mäuse. Dieser indirekte Uterustest (Zondek, 1930, Heller, Lauson und Sevringhaus, 1938, Klinefelter, Albright und Griswold, 1943, Gorbman, 1945, Evans und Simpson, 1950, Rosenberg und Mitarbeiter, 1957) ist eine relativ leicht und einfach durchführbare Methode. Routinemäßig testen wir je 1 Gruppe von 4 Mäusen auf 8, 16 und 32 MUE. Ist die 32 E-Bestimmung noch positiv, wird mit einem

neuen 24-Stunden-Urin je ein Test auf 16, 32, 64, 96 und 128 E angesetzt. Im einzelnen gingen wir dabei wie folgt vor: In 16 ml Wasser wird das Gonadotropinpräcipitat bzw. -filterrückstand gelöst. 8 ml davon werden zur Testung auf 8 E bei 4 Mäusen verwandt. Die restlichen 8 ml werden mit 8 ml Aqua dest. verdünnt, die Hälfte dieser Verdünnung zum 16 E-Versuch genommen usw. Für die Routinebestimmung werden somit 12 Versuchs- und 4 Kontrolltiere gebraucht. Den infantilen Mäusen wird an 4 aufeinanderfolgenden Tagen je 0,5 ml der Testlösung subcutan injiziert und werden am 5. Tag getötet. Die Kontrolltiere erhalten gleichzeitig die gleiche Menge 0,9 % NaCl-Lösung. Der Uterus wird vom Mesometrium, Fett und Anhangsorganen freipräpariert, die intrauterine Flüssigkeit zwischen Filterpapier ausgepresst und das Präparat auf der Torsionswaage gewogen. Als positiv wird der Test gewertet, wenn das Uterusgewicht von mindestens 3 der 4 Tiere der Gruppe 100 % über dem mittleren Uterusgewicht der 4 Kontrollen liegt.

Der Vorteil der Uterustestmethode zur Bestimmung der Gonadotropine liegt darin, daß auch die Wirkung geringer Gonadotropinmengen durch die starke Reaktionsfähigkeit dieses Organs beobachtet werden kann. In Abb. 5 wird einem infantilen Mäuseuterus (links) eine Gebärmutter gegenübergestellt (rechts), die sich nach Zufuhr von Harngonadotropinen um mehr als 100 % vergrößerte (positiver Mäuse-Uterus-Test).

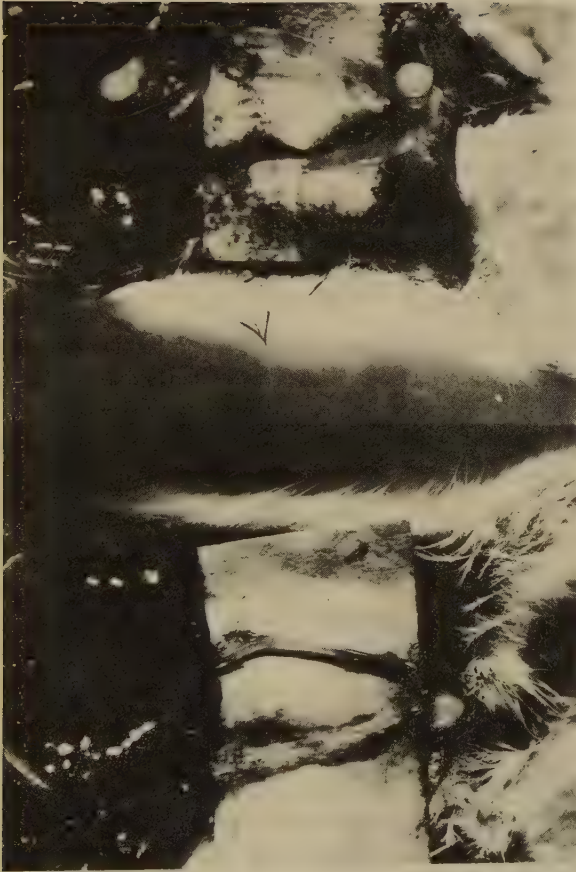


Abb. 5: Positiver Mäuse-Uterus-Test: Links infantiler Uterus einer Maus von 20 Tagen, rechts Uterusvergrößerung um mehr als 100 % nach Zufuhr von Harngonadotropinen

C. Ergebnisse

1. Stoffwechselgesunde

Wir prüften zunächst die Zuverlässigkeit unserer beiden Anreicherungsverfahren mit Choriongonadotropin bzw. Serumgonadotropin, da uns bei Beginn unserer Untersuchungen noch kein internationales Standardpräparat zur Verfügung stand. Zu unseren Versuchen wurden die beiden Scheringpräparate Primogonyl und Anteron in Wasser gelöst und eine Verdünnungsreihe hergestellt. Die Hälfte jeder Gonadotropinlösung wurde hormonfreiem Urin von Kindern unter 6 Jahren zugesetzt und mit beiden Verfahren wieder angereichert. Diese "künstlichen" Harngonadotropine wurden dann in einem Mäuseversuch den wassergelösten Präparaten gegenübergestellt. Dabei zeigte sich, daß der Wirkungsverlust durch Lösung und Anreicherung nie mehr als 20 % betrug und im Mittel bei 15 % lag.

Zur Bestimmung der Normalausscheidung gonadotroper Hormone beim Manne wurden insgesamt 30 stoffwechselgesunde Männer zwischen 20 und 40 Jahren untersucht. Die 24 - Stunden - Urine von je 5 Personen wurden gemischt und im Mäuse-Uterus-Test der Hormongehalt gemessen. Alle Mischurine ergaben Werte über 16 und unter 64 MUE. Als Normalbereich der Gonadotropinausscheidung für Männer können in unserem Labor damit Werte zwischen 20 und 40 MUE gelten (Abb. 6).

2. Diabetiker ohne Hypogonadismus

Die Ergebnisse von 26 Hormonbestimmungen bei 12 Diabetikern ohne Störung der Keimdrüsenfunktion sind in Tabelle 1 und Abb. 6 zusammengestellt. Wir fanden zweimal weniger als 8 und viermal weniger als 16 MUE, zehnmal lag die Ausscheidung zwischen 16 und 32 MUE und zehnmal zwischen 32 und 64 MUE. Die Ausscheidung der hypophysären Gonadotropine diabetischer Männer ohne Hypogonadismus liegt damit im Normbereich und unterscheidet sich nicht von der Stoffwechselgesunder.

3. Diabetiker mit Hypogonadismus

In Tabelle 2 und Abb. 6 sind die Resultate des Hauptversuchs

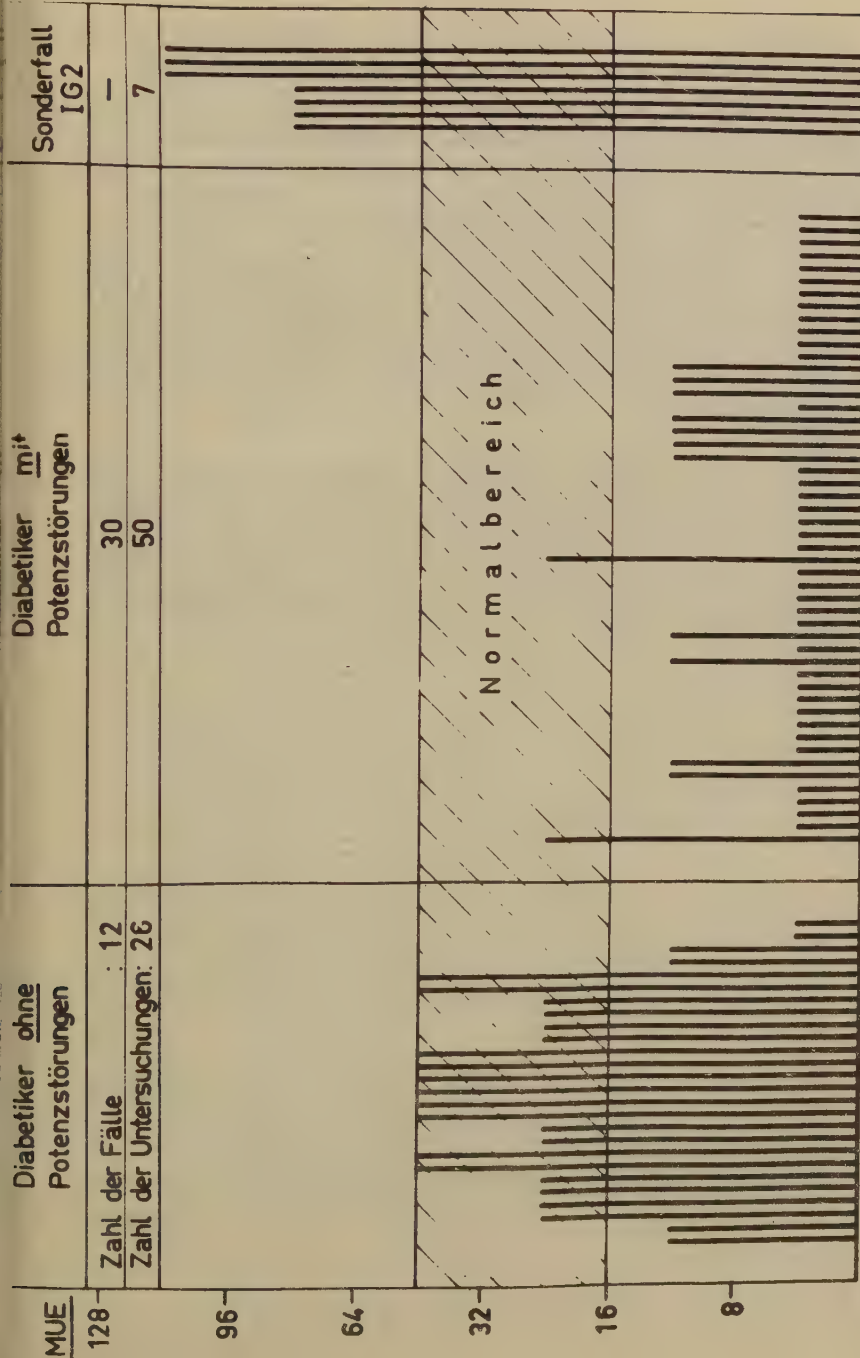


Abb. 6: Graphische Darstellung der Ausscheidung hypophysärer Gonadotropine bei Zuckerkranken ohne Potenzstörungen sowie bei Diabetikern mit Keimdrüsenunterfunktion

zusammengestellt. Wir untersuchten in insgesamt 57 Bestimmungen die Ausscheidung gonadotroper Hypophysenhormone bei 31 Kranken mit Diabetes und gleichzeitig bestehender Keimdrüsenunterfunktion. Wir kamen zu folgenden Ergebnissen: 2 Patienten schieden eine Tageshormonmenge zwischen 16 und 32 MUE aus. Bei 9 Kranken fanden wir in 11 Untersuchungen Werte zwischen 8 und 16 MUE. Schließlich konnten wir in 36 Untersuchungen bei 19 Diabetikern mit Hypogonadismus keine Gonadotropine nachweisen. Bei einem Kranken mit primärem Hypogonadismus (Germinalzellaplasie) und einer erst später aufgetretenen Zuckerkrankheit war die Gonadotropinausscheidung bei insgesamt 7 Untersuchungen auf Werte zwischen 84 und 96 MUE erhöht.

Während also die Gonadotropinausscheidung von eingestellten Zuckerkranken ohne Potenzstörungen normal war und in einem Fall von Germinalzellaplasie bei Diabetes sich die charakteristische Erhöhung fand, waren bei Diabetikern mit Hypogonadismus keine oder doch nur sehr geringe Mengen von Harngonadotropinen nachweisbar.

D. Diskussion

Unsere Bestimmung der Gonadotropine im Urin gesunder Männer ohne Fertilitätsstörung sowie ohne Anhalt für endokrine Erkrankung nach den Methoden von Taubert und Weller (1956) sowie von Massenbach und von Eickstedt (1954) ergab Werte zwischen 20 und 40 Mäuse-Uterus-Einheiten.

Sie gleichen damit den angegebenen Normalwerten von Levin und Tyndale (1937), Heller und Chandler (1942), Evans und Mitarbeiter (1942), Heller und Shipley (1951), Catchpole (1954), Vincke (1955), Taubert und Weller (1956). Niedrigere Normalwerte fand u.a. Gorbman (1945) sowie Crooke und Butt (1952).

Die Bestimmung der gonadotropen Hypophysenhormone bei Zuckerkranken (mit und ohne Störung der Potenz bzw. Libido) führten bisher nur Horstmann (1950) und Bergqvist (1954) durch. Horstmann stellte fest, dass bei männlichen und weiblichen Diabetikern die Gonadotropinausscheidung im Normalbereich liegt. Er vermutete eine direkte Hemmung der Hoden-Hormonproduktion durch die Zuckerkrankheit, die Impotenz des Diabetikers betrachtete er als Folge eines primären Hypogonadismus, demzufolge erwartete er eine erhöhte FSH-Ausscheidung. Doch konnten bei 28 männlichen Diabetikern (ob eine Potenzstörung hier vorlag, ist in der Arbeit nicht angegeben) 3 mal keine Gonadotropine, 22 mal weniger als 50 Mäuse-Uterus-Einheiten und 3 mal 50 Einheiten nachgewiesen werden.

Bei 25 von 28 Zuckerkranken lagen also keine Hormonerhöhungen vor. Eine verminderte Gonadotropinausscheidung wurde nicht ausgeschlossen, jedoch auch nicht bewiesen, da auf niedrigere Hormonwerte nicht getestet wurde. Nähere methodische Angaben fehlen.

Bergqvist (1954) reicherte gonadotrope Hormone durch Adsorption an Kaolin (Bradbury, Brown und Brown, 1949) bei 30 Diabetikern an und stellte die Resultate den Ergebnissen von 20 gesunden Männern gegenüber. Er testete im Mäuseversuch auf 10, 10 - 40 und mehr als 40 Uterus-Einheiten und

fund bei den Stoffwechselgesunden 4 mal weniger als 10 Einheiten, 14 mal 10 - 40 Einheiten, 2 mal mehr als 40 Einheiten. Demgegenüber wurden bei den 30 Zuckerkranken in 12 Fällen weniger als 10 Einheiten nachgewiesen, 17 mal lagen die Werte zwischen 10 und 40 Einheiten, und nur in 1 Fall lag die Ausscheidung über 40 Einheiten. 20 % der Gesunden schieden weniger als 10 Einheiten aus, 40 % der Diabetiker waren in ihrer Gonadotropinausscheidung ebenso stark vermindert. Die Erniedrigung bei Diabetikern war signifikant, wenn nur die Fälle mit einer Glykosurie von mehr als 30 g bewertet wurden. Ob bei diesen Patienten weitere subjektive oder objektive Anhaltspunkte für eine Keimdrüsenunterfunktion bestanden, wird nicht angegeben.

Wir bestimmten die Gonadotropinausscheidung in 26 Untersuchungen (Anreicherung 11 mal nach Taubert und Weller (1956), 15 mal nach von Massenbach und von Eickstedt (1954)) bei 12 Diabetikern ohne Keimdrüsenfunktionsstörung und fanden, daß männliche Zuckerkrankte ohne Potenzstörung in ihrer Gonadotropinausscheidung normale Werte aufweisen und den Stoffwechselgesunden gleichen.

Im Hauptversuch erfaßten wir die Ausscheidung gonadotroper Hormone bei Diabetikern mit Störung der Keimdrüsenfunktion. Wir untersuchten 31 Fälle in 57 Bestimmungen, 14 mal erfolgte die Anreicherung mit der Ultrafiltration und 43 mal durch Adsorption an Permutit. Auch hier befanden sich sämtliche Patienten in klinischer Behandlung, und bei allen war der Stoffwechsel kompensiert. Wir fanden bei nur 2 Kranken normale Ausscheidungswerte, bei 9 Patienten lag die Ausscheidung im unteren Bereich der Norm, und bei 19 Patienten konnten wir in 36 Untersuchungen keine gonadotropen Hormone mit unseren Bestimmungsmethoden nachweisen. Bei einem Patienten (Nr. 17 der Tab. 2) starben sämtliche Mäuse bei 2 Versuchen nach Anreicherung mit der Adsorptionsmethode. Wahrscheinlich enthielt der Urin dieses Kranken, der auch an einer diabetischen Nephropathie leidet, toxisch wirkende Eiweißkörper, die mit dem Anreicherungsverfahren nicht abgetrennt werden konnten. Bei anderen Kranken mit Proteinurie hatten wir keine Tierverluste. Bei

einem Zuckerkranken mit primärem Hypogonadismus (Germinalzell-aplasie) waren die Gonadotropine auf 64 - 96 Mäuse-Uterus-Einheiten (7 Untersuchungen) erhöht.

Schon aus diesen Resultaten ergibt sich, daß die Keimdrüsenunterfunktion des zuckerkranken Mannes wahrscheinlich auf einen Ausfall der hypophysären Gonadotropinproduktion zurückgeführt werden muß, d.h. daß den Erscheinungen ein sekundärer hypogonadotroper Hypogonadismus zugrunde liegt, bei dem sowohl germinatives und inkretorisches Hodensystem versagen (Schöffling). Unsere Beobachtungen stehen in Übereinstimmung mit den Resultaten Bergqvists. Sie wurden schließlich gesichert durch die Ergebnisse der Hodenbiopsie, die von Schöffling bei 24 Kranken durchgeführt wurde. Es fanden sich die typischen Testesveränderungen der mangelhaften hypophysären Stimulation. Der Reifungsprozess in den atrophischen Tubuli war vorzeitig gestoppt, und in den Kanälchen fanden sich oft unreife Vorstufen (Abb. 7).

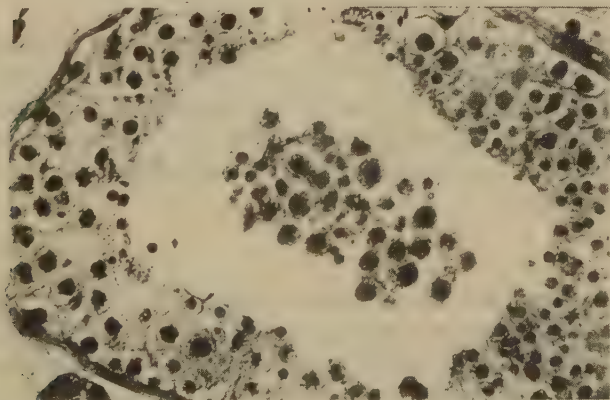


Abb. 7: Mittlere Reifungshemmung mit Abstoßung unreifer Formen. Hoden eines 39jährigen Diabetikers mit Keimdrüsenunterfunktion, H.E.-Färbung, Vergr. 450 mal (aus Schöffling, K.: Störungen der Keimdrüsenfunktion bei männlichen Zuckerkranken, Habilitationsschrift, Frankfurt/M., 1959; Stuttgart, F. Enke, 1960)

Die Leydig'schen Zwischenzellen waren als Ausdruck einer mangelhaften Produktion des ICSH vermindert (Abb. 8).

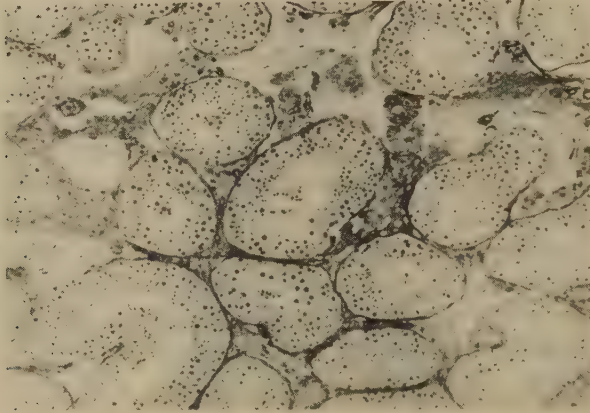


Abb. 8: Mittlere Reifungshemmung und Leydigzellverminderung. Hoden des gleichen Patienten wie in Abb. 7; H.E.-Färbung, Vergr. 100 mal (aus Schöffling, K.: Störungen der Keimdrüsenfunktion bei männlichen Zuckerkranken, Habilitationsschrift, Frankfurt/M., 1959; Stuttgart, F. Enke, 1960).

Die Sexualstörung des zuckerkranken Mannes, die von Schöffling noch in weiteren Untersuchungen näher aufgeklärt wurde, ist, wie unsere Bestimmungen und die Resultate der histologischen Hodenuntersuchungen ergaben, auf eine unzureichende Testosteron- und Spermienproduktion infolge mangelhafter Stimulierung ihrer Bildungsstätten durch die nicht oder in unzureichenden Mengen gebildeten hypophysären Gonadotropine zurückzuführen.

E. Zusammenfassung

Nach Darstellung des Funktionskreises der Gonaden und der Bedeutung der hypophysären Gonadotropine in diesem Funktionskreis, werden die bis 1960 entwickelten Methoden zur Anreicherung und zum Nachweis hypophysärer Gonadotropine im Harn geschildert. Die Betonung wird dabei auf die beiden Verfahren gelegt, die in der vorliegenden Arbeit zur Anwendung kamen.

Aufgabe dieser Dissertation war es festzustellen, wie sich die Gonadotropinausscheidung bei zuckerkranken Männern mit Potenzverlust und anderen Keimdrüsenfunktionsstörungen verhält und ob Unterschiede zu Diabetikern und Stoffwechselgesunden ohne Sexualstörung bestehen.

Die Gonadotropinausscheidung war bei 18 von 31 Zuckerkranken mit Potenzstörung mit Sicherheit vermindert und lag bei 10 weiteren Kranken im unteren Bereich der Norm. Diabetiker ohne Keimdrüsenfunktionsstörungen schieden normale Gonadotropinmengen aus, nur in 2 von 26 Bestimmungen bei 12 Kranken dieser Gruppe fand sich eine sichere Verminderung.

Aus den Resultaten der eigenen Untersuchungen an 31 Patienten und den Ergebnissen der bei 24 Kranken vorgenommenen Hodenbiopsie ergibt sich, daß die Keimdrüsenfunktionsstörungen des Zuckerkranken auf eine mangelhafte hypophysäre Stimulation der Gonaden zurückzuführen sind.

Tabelle 1

Ausscheidung hypophysärer Gonadotropine bei
männlichen Diabetikern ohne Störung der Keimdrüsenfunktion

Lfd. Nr.	Name	Lebens- alter	Methode	Ergebnis					N
				8	16	32	64	64	
				Mäuse-Uterus-Einheiten					
1	Fl.,A.	21	C	+	-	-	-	-	2
2	Au.,H.	23	U	+	+	-	-	-	3
3	Lau.,G.	26	C	+	+	-	-	-	1
4	Ri.,L.	28	U	+	+	+	-	-	2
5	La.,G.	30	C	+	+	-	-	-	2
6	Ki.,H.	31	C	+	+	+	-	-	2
7	Schn.,W.	36	U	+	+	+	-	-	4
8	Ra.,M.	37	C	+	+	-	-	-	2
9	Po.,H.	43	U	+	+	-	-	-	2
10	Ri.,E.	48	U	+	+	+	-	-	2
11	Kö.,F.	56	U	+	-	-	-	-	2
12	Bl.,R.	72	C	-	-	-	-	-	2

Erläuterung: C = Chromatographie
U = Ultrafiltration
N = Zahl der Untersuchungen

Tabelle 2

Ausscheidung hypophysärer Gonadotropine bei
männlichen Diabetikern mit Störung der Keimdrüsenfunktion

Lfd. Nr.	Name	Lebens- alter	Methode	Ergebnis					N
				8	16	32	64	64	
				Mäuse-Uterus-Einheiten					
1	Re.,O.	18	C	+	+	-	-	-	1
2	Lö.,O.	23	C	-	-	-	-	-	1
3	Re.,K.	23	C	-	-	-	-	-	3
4	Je.,M.	28	U	+	-	-	-	-	1
			C	+	-	-	-	-	1
5	Fr.,F.	32	U	+	+	+	+	+	4
			U	+	+	+	+	+	96 1
			C	+	+	+	+	+	96 2
6	Kö.,H.	33	C	-	-	-	-	-	2
7	Sche.,H.	33	U	-	-	-	-	-	2
			C	-	-	-	-	-	2
8	Kö.,O.	34	C	-	-	-	-	-	1
9	Oe.,C.	34	U	-	-	-	-	-	1
			C	+	-	-	-	-	1
10	Re.,H.	34	C	+	-	-	-	-	1
11	Sp.,K.	34	U	-	-	-	-	-	2
			C	-	-	-	-	-	2
12	Er.,K.	36	C	+	+	-	-	-	1
13	Bl.,O.	39	C	-	-	-	-	-	2
14	He.,T.	39	U	-	-	-	-	-	1
			C	-	-	-	-	-	1
15	Pe.,R.	39	C	-	-	-	-	-	1
16	Kl.,P.	41	C	-	-	-	-	-	2
17	De.,K.	43	C						2
18	Wi.,V.	47	C	+	-	-	-	-	2
19	Wo.,R.	47	C	+	-	-	-	-	1
20	Ha.,Ph.	47	C	+	-	-	-	-	1
21	Ha.,V.	47	C	-	-	-	-	-	1
22	Ro.,W.	49	C	+	-	-	-	-	1
23	El.,W.	49	C	+	-	-	-	-	1

Fortsetzung Tabelle 2

Lfd. Nr.	Name	Lebensalter	Methode	Ergebnis					N
				8 Mäuse	16 -Uterus	32 -Einheiten	64	64	
24	Ru., H.	50	U	+	-	-	-	-	1
			C	-	-	-	-	-	1
25	Ma., H.	50	C	-	-	-	-	-	2
26	Zw., W.	52	C	-	-	-	-	-	1
27	Ma., L.	52	C	-	-	-	-	-	2
28	Da., G.	53	C	-	-	-	-	-	1
29	Ka., E.	54	C	-	-	-	-	-	2
30	Fr., H.	56	C	-	-	-	-	-	2
31	Fa., G.	56	U	-	-	-	-	-	1

Erläuterung: C = Chromatographie
 U = Ultrafiltration
 N = Zahl der Untersuchungen

L i t e r a t u r

=====

- Alexandridis, D.,
M. Apostolakis u.
K. D. Voigt Comperative Studies on Methods of Assay for
a Routine, Clinical Gonadotrophin Determina-
tion in Human Urine - Acta Endocrinologica
29, 537 (1958)
- Allen, E. u. E. A.
Doisy On Ovarian Hormone. Preliminary Report on
its Localisation, Extraction and Partial
Purification and Action in Test Animals -
J. Amer. Med. Assoc. 1923, 819
- Aschheim, S. u.
B. Zondek Die Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn
durch Nachweis des Hypophysenvorderlappen-
hormons. I. Grundlagen und Technik der
Methode - Klin. Wschr. 1928, 1404
- Aschheim, S. u.
B. Zondek Die Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn
durch Nachweis des HVL-Hormons; praktische
und theoretische Ergebnisse aus den Harnun-
tersuchungen - Klin. Wschr. 1928, 1453
- Benz, F. Helv. chim. Acta 24, 197 (1941)
- Bergqvist, N. The Gonadal Function in Male Diabetics -
Acta Endocrinologica Suppl. 18, 1954
- Bomskov, Chr. Methodik der Hormonforschung, 2. Bd. Thieme-
Verlag Leipzig 1937
- Bradbury, J. T.,
E. S. Brown u. W.
E. Brown Adsorption of Urinary Gonadotrophins on
Kaolin - Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 71, 228
(1949)
- Bradbury, J. T.,
E. S. Brown u. W.
E. Brown Adsorption of Urinary Gonadotrophins on
Kaolin. Federation Prov. 8, 15 (1949)
- Catchpole, H. R. zit. Voss, H. E. (1954)

- Crooke, A.C. u.
W.R. Butt Further Observations on Chromatography of
Urinary Gonadotropins - Proc. Roy. Soc. Med.
45, 805 (1952)
- Dickens, F. Preparation and Properties of Gonad Stimu-
lating Hormone from Urine of Pregnancy -
Biochem. J. 24, 1507 (1930)
- Evans, H.M. u.
A. Gorbman Urinary Gonadotrophins in Normal Men -
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 49, 674 (1942)
- Evans, H.M. u. M.
E. Simpson Physiology of the Gonadotrophins - in Pin-
cus, G. u. K.V. Thimann: The Hormones, Bd. II,
New York, Academic Press 1950
- Everett, N.B. u.
B.L. Baker Endocrinology 37, 83 (1945)
- Falta, W. Die Zuckerkrankheit - 3. Aufl., Berlin u.
Wien, Urban u. Schwarzenberg, 1944
- Gorbman, A.L. Ultrafiltration of Urine for Collection
and Biological Assay of Excreted Hypophyseal
Hormones - Endocrinology 37, 177 (1945)
- Gustavson, R.G. u.
F.E. D'Amour J. Amer. Med. Assoc. 117, 188 (1941)
- Heller, A.L. u.
R.A. Shipley Endocrine Studies in Aging - J. Clin. Endo-
crinol. 11, 945 (1951)
- Heller, C.G., H.
Lauson u. E.L.
Sevringhaus Immature Rat Uterus as Assay - End Point for
Gonadotropic Substances - Ann. J. Physiol.
121, 364 (1938)
- Heller, C.G. u.
R.E. Chandler Gonadotropic Hormone Modification of the
Alcohol Precipitation Assay Method - J. Clin.
Endocrinol. 2, 252 (1942)

- Herlant, M. Arch. Biol. (Paris) 54, 225 (1943)
- Hertz, R. u. Am. J. Physiol. 108, 1 (1934)
F. L. Hisaw
- Horstmann, P. The Excretion of Androgens in Human Diabetes Mellitus - Acta Endocrinologica 5, 261 (1950)
- Hoff, F. Klinische Physiologie und Pathologie, 5. Aufl. Stuttgart, Gg. Thieme, 1957
- Joslin, E. P., H. The Treatment of Diabetes Mellitus - 8. u. 9. Aufl., Philadelphia, Lea u. Febiger, 1947 u. 1952
F. Root, P. White
u. A. Marble
- Jungck, E. C., W. O. Gonadotropic Hormone: Comparison of Ultra-
Maddock u. C. G. filtration and Alcohol Precipitation Me-
Heller thods of Recovery from Urine - J. Clin. En-
docrinol. 7, 1 (1947)
- Katzman, P. A. u. J. Biol. Chem. 98, 739 (1932)
A. E. Doisy
- Katzman, P. A., M. The Preparation of Chorionic Gonadotropin
Godfried, C. K. by Chromatographic Adsorption - J. Biol.
Cain u. E. A. Chem. 148, 501 (1948)
Doisy
- Kinsey, A. C., W. Sexual Behaviour in the Human Male - Phila-
B. Pomeroy u. C. delphia, Saunders, 1948
E. Martin Deutsche Übersetzung mit P. H. Gebhard: Das
sexuelle Verhalten des Mannes - Berlin u.
Frankfurt/M., G. B. Fischer, 1955
- Klinefelter, H. F., Experience with Quantitative Test for Nor-
F. Albright u. G. mal or Decreased Amounts of Follicle-Sti-
C. Griswold mulating Hormone in the Urine in Endocri-
nological Diagnosis - J. Clin. Endocrinol. 3, 529 (1943)
- Kuhlmeier, W. Sind Diabetes oder extrainsuläre Glykosuri-
en durch männliches Hormon zu beeinflussen?
- Dtsch. Med. Wschr. 1939, 5
- Levin, L. u. H. The Quantitative Assay of "Follicle Stimu-
N. Tyndale lating" Substances - Endocrinology 21, 619
(1937)

- Li, Ch.H. Vitamines and Hormones. Bd. VII. "The Chemistry of Gonadotropic Hormones", Acad. Press. Inc. Pub., New York, 1949
- Li, Ch.H., M.E. Science 109, 445 (1949)
Simpson u. H.M.
Evans
- Lorraine, J.A. The Estimation of Chorionic Gonadotrophin in the Urine of Pregnant Woman - J.Clin. Endocrinol. 6, 319 (1950)
- McShan, W.H. u. Endocrinology 50, 294 (1952)
R.K. Meyer
- Maddock, W.O. u. Gonadotrophic Hormone: Protection against Inactivation - Endocrinol. 6, 319 (1950)
C.G. Heller
- Malburg, R.F. u. Aluminium Hydroxide as Adsorbing Agent for Urinary Gonadotrophins - J.Clin. Endocrinol. 14, 666 (1954)
I.R. Goodman
- von Massenbach, W. Arch. Gynaek. 184, 776 (1954)
u. K.W. von
Eickstedt
- Romeis, B. Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen (von Moellendorff) VI/3. "Hypophyse". Springer-Verlag 1940
- Rosenberg, E.F., A Precise Method for the Bioassay of Urinary Gonadotropin with a Suggestion for a Stable, Easily Available Reference Standard - Endocrinology 61, 337 (1957)
F. Smith u. R.I.
Dorfman
- Rubin, A. u. Impotence and Diabetes Mellitus - J. Amer. Med. Assoc. 1958, 498
D. Babbott
- Scott, L.D. Concentration and Detoxification of Human Urine for Biological Pregnancy Diagnosis - Brit. J. Exp. Path. 21, 320 (1940)
- Severinghaus, E.L. Anat. Rec. (Am.) 61 (1935)
- Simpson, M.E., H.M. Anatomical Record 106, 399 (1950)
Evans u. Ch.H. Li

- Simpson, M.E., Ch. H. Li u. H.M. Evans Endocrinology 48, 370 (1951)
- Szendi, B. Arch. Gynaek. 168, 544 (1938)
- Schöffling, K. Störungen der Keimdrüsenfunktion bei männlichen Zuckerkranken - Habilitationsschrift, Frankfurt/M., 1959; Stuttgart, F. Enke, 1960
- Taubert, M. u. O. Weller Chromatographische Gonadotropingewinnung - Klin. Wschr. 1956, 84
- Vincke, E. Der Wirkungsmechanismus von Hormonen - S. Hirzel-Verlag Leipzig 1950
- Vincke, E. Die Gonadotropine - in Nowakowski, H.: Die Keimdrüsen des Mannes, Berlin, Springer, 1955
- Werth, G. Die gonadotropen Hormone - Arzneimittel-Forschung 5, 409, 735 (1955); 6, 79 (1956)
- Wiechmann, E. Die Zuckerkrankheit - München, Lehmann, 1953
- Wiesner, B.P. u. P.G. Marschall Quart. J. Exp. Physiol. 21, 147 (1931)
- Zondek, B. Die Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn durch Nachweis des Hypophysenvorderlappenhormons, Grundlagen und Technik der Methode - Klin. Wschr. 1928, 1404
- Über die Hormone des Hypophysenvorderlappens. IV. Darstellung des Follikelreifungshormons (Prolan A) - Klin. Wschr. 1930, 1207
- Die Hormone des Ovariums und des Hypophysenvorderlappens - Wien, Springer, 1935

L e b e n s l a u f

=====

Als Tochter des Kapellmeisters Ferdinand Pöpperl und seiner Ehefrau Magdalena, geb. Weiß, wurde ich am 19.7.1931 in Chemnitz/Sachsen geboren.

1953 bestand ich an der Helene-Lange-Schule in Frankfurt/M.-Höchst die Reifeprüfung. Ab Sommersemester 1953 studierte ich an der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität zu Frankfurt am Main Medizin. Dort bestand ich am 5.4.1961 die ärztliche Prüfung.

Am 9.5.1958 heiratete ich Edoardo Pellizzari aus Bozen.

Als Medizinalassistentin war ich von Mai 1961 bis Dezember 1961 in der Universitäts-Kinderklinik tätig. Seit Januar 1962 befinde ich mich auf der Inneren Abteilung im Privatkrankenhaus-Sachsenhausen, Frankfurt/Main.

